

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

12.07.01

REC'D 31 AUG 2001

WIPO PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年 7月13日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-213531

出 願 人

Applicant(s):

松下電器産業株式会社

TECHNOLOGY CENTER 2800

DEC 15 2004

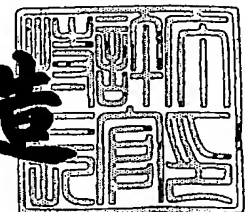
RECEIVED

PRIORITY
DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2001年 8月17日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2001-3072342

特 2 0 0 0 - 2 1 3 5 3 1

【書類名】 特許願

【整理番号】 2032620021

【提出日】 平成12年 7月13日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G01R 33/465

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府門真市大字門真1 0 0 6 番地 松下電器産業株式会社内

 【氏名】 行政 哲男

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府門真市大字門真1 0 0 6 番地 松下電器産業株式会社内

 【氏名】 岡 弘章

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府門真市大字門真1 0 0 6 番地 松下電器産業株式会社内

 【氏名】 小川 竜太

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府門真市大字門真1 0 0 6 番地 松下電器産業株式会社内

 【氏名】 杉原 宏和

【特許出願人】

 【識別番号】 000005821

 【氏名又は名称】 松下電器産業株式会社

【代理人】

 【識別番号】 100078282

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 山本 秀策

特 2 0 0 0 - 2 1 3 5 3 1

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 001878

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9303919

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 細胞外記録用一体化複合電極

【特許請求の範囲】

【請求項1】 生物学的試料の電気生理学的特性を測定するための一体化複合電極であって、

基板上の第1の領域に配置された複数の微小電極、および

基板上の第2の領域に配置された参照電極を備え、

該参照電極が、微小電極に電気信号を付与するための1つ以上の刺激用参照電極を含む、一体化複合電極。

【請求項2】 前記参照電極が、前記複数の微小電極からの電気信号を検出するための1つ以上の測定用参照電極を含み、前記刺激用参照電極が、該測定用参照電極と電気回路的に絶縁されている、請求項1に記載の一体化複合電極。

【請求項3】 前記第2の領域が、前記第1の領域の周縁から間隔を置いて配置され、かつ前記第1の領域を取り囲む、請求項1または2に記載の一体化複合電極。

【請求項4】 前記生物学的試料が、前記第1の領域と重複し、かつ前記第2の領域とは重複しないように配置される、請求項1から3のいずれかに記載の一体化複合電極。

【請求項5】 前記間隔が、電気信号が付与される微小電極から発生する電気信号を検出し、かつ電気信号が付与されない微小電極から発生する電氣的ノイズを検出しないように設定される、請求項3または4に記載の一体化複合電極。

【請求項6】 複数の刺激用参照電極および複数の測定用参照電極を備え、刺激用参照電極の各々または測定用参照電極の各々が、前記第1の領域の中心に関して互いにほぼ対称に配置される、請求項2から5のいずれかに記載の一体化複合電極。

【請求項7】 前記複数の微小電極が前記第1の領域内でマトリックス状に配置される、請求項1から6のいずれかに記載の一体化複合電極。

【請求項8】 請求項1から7のいずれかに記載の一体化複合電極を備え、該一体化複合電極の基板上に生物学的試料を置くための細胞設置領域を有する、

一体化細胞設置器。

【請求項 9】 請求項 8 に記載の一体化細胞設置器と、生物学的試料の電気生理学的活動による出力信号を処理するために該微小電極に接続される出力信号処理装置を備え、さらに必要に応じて生物学的試料に電氣的刺激を与えるために前記微小電極に接続される刺激信号付与装置を備えた、細胞電位測定装置。

【請求項 10】 請求項 9 に記載の細胞電位測定装置を備え、さらに、生物学的試料を光学的に観察するための光学観察装置および／または生物学的試料の培養環境を制御するための細胞培養装置を備えた、細胞電位測定システム。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、生体活動の電氣的計測、特に神経細胞の活動に伴う電位変化などを測定するための、神経電気生理の分野で有用な、細胞外記録用一体化複合電極、およびそれを備えた細胞電位測定装置に関する。

【0002】

【従来の技術】

近年、神経細胞の医学的検討、および神経細胞を電気素子として利用する検討が活発に行われている。神経細胞などが活動する際には活動電位が発生する。活動電位は、神経細胞のイオン透過性の変化に伴って細胞膜内外のイオン濃度が変化し、これにより細胞膜電位が変化することによって生じる。そこで、神経細胞近傍の電位変化を測定すれば、神経細胞の活動を観察することが可能である。

【0003】

従来、上記のような細胞活動に伴う活動電位は、マイクロマニピレータなどを用いて細胞近傍に配置されたガラス製の細胞外電位測定用電極または金属製（白金など）の電極を用いて測定されていた。あるいは、細胞活動に伴う活動電位は、上記と同様の電極を細胞内に挿入することにより測定されていた。

【0004】

しかし、上記いずれの従来方法も、電極の調製に熟練した技術を要すること、電極のインピーダンスが高く、外部雑音の影響を受けやすいこと、さらに、電極

を細胞内に挿入する方法では細胞または組織に傷害を与えること、などの問題点があった。このため、生物学的試料の安定した長期間の観察には適さなかった。

【0005】

本発明者らは、絶縁性基板上に導電性物質を用いて複数の微小電極とその引き出しパターンを形成し、この上での細胞および組織培養を可能にした一体化複合電極を開発した（特開平6-78889号公報および特開平6-296595号公報）。この一体化複合電極は、細胞、組織などの生物学的試料に傷害を与えることなく、神経細胞の観察を安定にかつ長期間にわたって行うことが可能である。この一体化複合電極では、電解によって、細胞と近接する電極の最表面に白金黒の多孔性のメッキを施し（特開平6-78889号公報）、インピーダンスを実用的なレベルである約50k Ω 以下に調整する。

【0006】

この一体化複合電極では、神経細胞の活動電位を測定する際に、例えば、組織のある部位における神経細胞に外部から電流もしくは電圧による刺激を加え、この刺激に対する他の部位の反応を観察することによって組織内の神経ネットワークの解析等が可能となる。この場合、刺激は、一体化複合電極上の複数の微小電極中の、刺激を加えるのに最も適した部位における微小電極を刺激電極として選択し、その周辺の任意の微小電極を基準電極として、この二つの微小電極間に刺激を加え、複数の微小電極の反応電位を測定する。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

ところが、上記刺激電極の周りの基準電極上には、他の細胞または組織が存在しており、外部から電流または電圧による刺激を入れた場合、刺激電極上の細胞のみならず、基準電極上の細胞までも刺激されてしまい、所望する信号が正しく測定できない場合が多かった。また、基準電極のインピーダンスが上昇してしまった場合、外部雑音の影響や、刺激によるアーチファクトが大きくなることは避けられなかった。

【0008】

本発明は上記問題点の解決を意図するものであり、その目的は、外部雑音の影

響を受けにくく、刺激によるアーチファクトを低減し、細胞の電氣的信号を記録するのに適した一体化複合電極を提供することにある。

【 0 0 0 9 】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、細胞外記録用一体化複合電極の作成において、基準電極として用いる参照電極を、刺激電極と十分離れた位置に配置し、参照電極上に細胞または組織が存在しないようにすることによって、外部雑音の影響を受けにくく、刺激によるアーチファクトが低減することを見出し本発明を完成するに至った。

【 0 0 1 0 】

さらに、刺激用参照電極と測定用参照電極が電氣的に独立していることによって、上記外部雑音の影響と刺激によるアーチファクトの低減に対し、さらなる効果が発揮されることを見出して本発明を完成するに至った。

【 0 0 1 1 】

本発明は、生物学的試料の電氣生理学的特性を測定するための一体化複合電極に関し、この一体化複合電極は、基板上の第 1 の領域に配置された複数の微小電極、および基板上の第 2 の領域に配置された参照電極を備え、この参照電極は、微小電極に電氣信号を付与するための刺激用参照電極を含む。

【 0 0 1 2 】

好ましくは、上記参照電極は、上記複数の微小電極からの電氣信号を検出するための 1 つ以上の測定用参照電極を含み、上記刺激用参照電極は、上記測定用参照電極と電氣回路的に絶縁されている。

【 0 0 1 3 】

好ましくは、上記第 2 の領域は、上記第 1 の領域の周縁から間隔を置いて配置され、かつ前記第 1 の領域を取り囲む。

【 0 0 1 4 】

好ましくは、上記生物学的試料は、前記第 1 の領域と重複し、かつ前記第 2 の領域とは重複しないように配置される。

【 0 0 1 5 】

好ましくは、上記間隔は、電氣信号が付与される微小電極から発生する電氣信

号を検出し、かつ電気信号が付与されない微小電極から発生する電氣的ノイズを検出しないように設定される。

【0016】

好ましくは、上記参照電極の各々は、上記第1の領域上に配置される上記生物学的試料と重複しないような位置に配置される。

【0017】

好ましくは、上記間隔は、0.1mm以上、より好ましくは、1mm～10mmの間の範囲である。

【0018】

好ましくは、上記測定用参照電極の各々は、上記第1の領域の中心から、1mm以上、より好ましくは、5mm～11mm離れた位置に配置される。

【0019】

好ましくは、上記1つ以上の刺激用参照電極または上記1つ以上の測定用参照電極がそれぞれ複数存在する場合、それらの各々は、上記第1の領域の中心に関して互いにほぼ対称に配置される。

【0020】

好ましくは、上記複数の微小電極は上記第1の領域内でマトリックス状に配置される。

【0021】

好ましくは、上記一体化複合電極は、上記微小電極の各々に電気信号を付与しまたは該微小電極から電気信号を導出し得る配線部を備える。

【0022】

本発明は、1つの局面で、上記の一体化複合電極を備え、この一体化複合電極の基板上に生物学的試料を置くための細胞設置領域を有する、一体化細胞設置器に関する。

【0023】

本発明は、1つの局面で、上記一体化細胞設置器と、生物学的試料の電気生理学的活動による出力信号を処理するために上記微小電極に接続される出力信号処理装置を備え、さらに必要に応じて生物学的試料に電氣的刺激を与えるために上

記微小電極に接続される刺激信号付与装置を備えた、細胞電位測定装置に関する。

【 0 0 2 4 】

本発明はまた、上記細胞電位測定装置を備え、さらに、生物学的試料を光学的に観察するための光学観察装置および／または生物学的試料の培養環境を制御するための細胞培養装置を備えた、細胞電位測定システムに関する。

【 0 0 2 5 】

【発明の実施の形態】

以下、本発明をより詳細に説明する。

【 0 0 2 6 】

（微小電極および参照電極）

本発明の一体化複合電極は、絶縁性基板上の第 1 の領域に配置された複数の微小電極を備える。この第 1 の領域の上に細胞、組織などの生物学的試料を配置することにより、生物学的試料中の細胞の電気的活動を計測することが可能になる。

【 0 0 2 7 】

本発明の一体化複合電極は、微小電極の各々を電気信号により刺激するための基準電極として、複数の微小電極とは異なる 1 つ以上の参照電極（刺激用参照電極）を備えることを特徴とする。

【 0 0 2 8 】

本発明の一体化複合電極はまた、微小電極の各々からの電気信号を検出するための 1 つ以上の参照電極（測定用参照電極）を備え得る。上記参照電極（刺激用参照電極および測定用参照電極）は、絶縁性の基板上の第 2 の領域内に配置される。好ましくは、上記参照電極の各々は、複数の微小電極が配置される第 1 の領域から十分離れた位置に配置される。好ましくは、刺激用参照電極は、測定用参照電極とは互いに電気回路的に独立している。

【 0 0 2 9 】

本発明の一体化複合電極において、代表的には、複数の微小電極は、基板上の第 1 の領域内でマトリックス状となるように、すなわち、格子の各交点上に位置

するように配置される。この配置により、複数の微小電極を等間隔に配列させ得る。これは、生物学的試料中の隣接する神経細胞を、隣接する微小電極上に位置させて、隣接する細胞間の電氣的信号の伝達を検知することを可能とする。

【 0 0 3 0 】

本発明の一本化複合電極において、代表的には、複数の参照電極は、第 2 の領域内で、上記第 1 の領域の中心に関して互いに対称の位置に配置され、それによって、刺激によって生じる微小電極からの電氣的ノイズの検出を低減し得る。

【 0 0 3 1 】

微小電極の各々には、外部から電氣信号を付与するか、または電氣信号を外部に導出するための配線部が接続され得る。代表的には、この配線部は、微小電極の各々と接続し、各電極から基板の周辺方向に引き出されたリード線を含む。配線部は、このリード線の端部に接続された、通常は基板の辺縁部に位置する電氣接点をさらに含み得る。配線部の材料として好ましい例には、酸化インジウム錫 (ITO) が挙げられる。

【 0 0 3 2 】

代表的には、リード線の表面は絶縁層に覆われる。絶縁層はリード線上のみに配置されてもよいが、好ましくは、微小電極上および電氣接点の近傍を除いて、基板上面のほぼ全体を被覆するように配置される。絶縁層の材料として好ましい例には、加工の容易なアクリルや感光性のポリイミドが挙げられる。

【 0 0 3 3 】

(一体化複合電極の構成)

本発明の一体化複合電極の詳細な設計にあたっては、上記の刺激用の基準電極として特別に設けられた参照電極を具有することを妨げない限り、公知の一体化複合電極における任意の構造的特徴を採用し得る (例えば、特開平 6 - 7 8 8 8 9 号公報を参照のこと)。以下に、代表的な一体化複合電極の構成例を示す。ここで記述された態様は、測定対象たる生物学的試料の特性、収集が意図される測定データの性格などの種々の要因を反映して、適宜設定、変更し得るものである。

【 0 0 3 4 】

一体化複合電極に供される基板材料としては、細胞培養後の光学的観察の便宜のために透明な絶縁性材料が好ましい。例として、石英ガラス、鉛ガラス、ホウ珪酸ガラスなどのガラス、もしくは石英などの無機物質、または、ポリメタクリル酸メチルまたはその共重合体、ポリスチレン、ポリエチレンテレフタレートなどの透明性を有する有機物質が挙げられる。機械的強度と透明性とに優れる無機物質が好ましい。

【 0 0 3 5 】

基板上に配置される電極材料としては、例えば、酸化インジウム錫（ITO）、酸化錫、Cr、Au、Cu、Ni、Al、Pt、などが使用され得る。なかでも、ITOおよび酸化錫が好ましく、透明性で良導電性であるITOが特に好ましい。上記の微小電極は、通常、所望の位置および形状に配置されたこれら電極材料の一部の最表面に白金黒や金などで処理を行い形成される。

【 0 0 3 6 】

複数の微小電極は、通常、最近接の電極間距離が相等しくなるように、等間隔で配置される。最近接の電極間距離は、代表的には約10から約1000 μ mの範囲内にあり得る。電極の形状は、代表的には、略正方形もしくは略円形であって、1辺の長さ、もしくは直径は約20 μ mから約200 μ mの範囲内にあり得る。このような設定により、測定対象の生物学的試料、例えば、神経細胞（すなわち細胞体と樹状突起と軸索突起）の細胞体が一つの微小電極上に置かれたとき、この細胞体から伸びた細胞突起を介して隣接する別の細胞体が、隣接する電極上に位置する確率が高くなる。

【 0 0 3 7 】

複数の参照電極もまた、通常、最近接の参照電極間距離が相等しくなるように、等間隔で配置される。最近接の参照電極間距離は、代表的には、約8mmから約16mmの範囲内にあり得る。電極の形状は、代表的には、略正方形もしくは略円形であって、1辺の長さ、もしくは直径は約80 μ mから約800 μ mの範囲内にあり得る。このような設定により、微小電極からの発生する電氣的ノイズの検出を低減し得る。

【 0 0 3 8 】

本発明の一体化複合電極において、上記第2の領域は、通常、上記第1の領域の周縁から約0.1mm以上の間隔を置いて配置される。理論的には、この間隔が大きいほど参照電極がノイズを検出する確率は低くなるが、その上限値は、主に一体化複合電極の構造的特徴により規定され、代表的な一体化複合電極では、参照電極は、以下に説明する細胞設置領域を規定するリングの内径（代表的には約22mmφ）内に設置されるため、上記間隔は、通常約10mmを超えることはなく、代表的には約1mm～約10mmの範囲にある。

【0039】

上記第2の領域が、上記第1の領域の周縁から約0.1mmより小さい間隔を置いて配置される場合、参照電極は、上記第1の領域に重複して配置される生物学的試料の影響を受けて隣接する微小電極とクロストークを生じ得る。

【0040】

図9は、上記第1の領域と第2の領域の関係を示す概念図である。図9において、点線で示される3つの同心円のうち、最も内側の円に囲まれる領域が微小電極（図中小さい黒四角で表される）を含む第1の領域であって、まん中の円と最も外側の円に囲まれたドーナツ状の領域が参照電極（図中黒四角で表される）を含む第2の領域である。dは、第1の領域の周縁と第2の領域との間隔を示す。

【0041】

微小電極と接続するリード線もまた、上記の電極材料から作製され、やはりITOが好ましい。通常、このような電極材料を基板上に蒸着した後、フォトリソを用いてエッチングすることにより、微小電極の最下層、およびリード線を含む配線部が、一体として、所望のパターンに形成される。このとき、微小電極の最下層および配線部の厚みは、およそ500～5000オングストローム程度であり得る。

【0042】

代表的には、リード線は、各微小電極から略放射状に伸ばした形状に配置される。この略放射状の形状の配置と組み合わせて、複数の微小電極の中心点を、8×8の格子上の各交点に位置させることが特に好ましい。

【0043】

リード線を被覆し絶縁するための絶縁層の材料としては、例えばポリイミド（PI）樹脂、エポキシ樹脂などの透明な樹脂が用いられ得る。ネガティブフォトリソグラフィ性ポリイミド（NPI）などの感光性樹脂が好適である。感光性樹脂の絶縁層材料を用いた場合、例えば、フォトリソグラフィによるパターン形成を利用して、微小電極上の絶縁層部分に孔を開けて、微小電極のみを露出させることが可能となる。このように、絶縁層は、各微小電極上および外部回路との電気接点の近傍を除いて、絶縁基板のほぼ全面を被覆するように設けられることが、生産効率などの点で好ましい。

【0044】

（細胞電位測定装置およびシステム）

本発明の一体化複合電極を、神経細胞などの測定に有効に活用するためのシステムにおける種々の構成要素の設計にあたっては、公知の細胞電位測定システムにおける任意の特徴を採用し得る（例えば、特開平8-62209号公報を参照）。

【0045】

本発明の一体化複合電極は、通常、複合電極上での細胞培養を容易にするための構造、および所望により複合電極自体の取り扱いを容易にするための構造が加えられて、一体化細胞設置器として提供され得る。

【0046】

代表的には、複合電極上での細胞培養のためには、上記絶縁層で基板のほぼ全面が被覆された基板上に、絶縁層を介して、培養液を保持し得る構造部分を付加し得る。このような培養液保持構造として、例えば、ポリスチレン製の円筒状の枠を、複数の微小電極を囲む上記第1の領域および参照電極を含む第2の領域を囲むように基板上に固定し得る。このとき、ポリスチレン枠の内側が、細胞設置領域を規定する。

【0047】

一体化複合電極を細胞測定に用いる際の取り扱いを容易にするために、一体化複合電極は、例えば、プリント配線板を組み合わせることができる。プリント配線板は、一体化複合電極の電気接点と導電接続する導電パターンを有することに

より、微小電極から電気接点に至る電気接続をさらに外部に引き出す役割を果たす。プリント配線板と一体化複合電極との電気接続を保持しつつ、両者を確実に固定するために、さらに、適切な形状のホルダ、例えば、複合電極を上下から挟む形状の2分割式ホルダを用いることができる。

【0048】

上記一体化細胞設置器に、出力信号処理装置をさらに組み合わせることにより、複合電極上に配置された細胞に電氣的刺激を与え、その応答としての出力信号を処理するための細胞電位測定装置が構成され得る。

【0049】

刺激信号付与装置は、上記複数の微小電極のうちの任意の微小電極と刺激用参照電極との間に刺激信号を印加し得る。刺激信号に細胞が応答することによって、他の電極において誘発電位の変化が得られ、出力信号として信号処理装置に与えられる。出力信号は、適切な信号処理を経て、例えば表示装置などに出力される。なお、刺激信号を受けることなく細胞において発生する自発電位の測定も、同時に行われ得る。

【0050】

刺激信号付与装置および出力信号処理装置は、代表的には、適切な測定用ソフトウェアを備えたコンピュータによって一体として構成される。測定用ソフトウェアは、コンピュータの画面上に、刺激条件などを設定し得るパラメータ設定画面、細胞から検出された電位変化を記録し、リアルタイムで多チャンネル表示し得る記録画面、および記録されたデータを解析し得るデータ解析画面などを与える。好ましくは、コンピュータからの刺激信号は、D/A変換器を介して一体化複合電極へと出力され、そして細胞からの出力信号は、A/D変換器を介してコンピュータに入力される。

【0051】

細胞電位測定装置にさらに、光学観察装置と細胞培養装置とを組み合わせることにより、神経細胞を長期間にわたって培養し、その電気生理学的活動を安定にかつ正確に測定することを可能にする、細胞電位測定システムが構築され得る。光学観察装置としては、倒立顕微鏡の他に、高精細度ディスプレイおよび画像フ

ァイル装置を備えた、顕微鏡用の S I T カメラを用いることができる。

【 0 0 5 2 】

細胞培養装置としては、培養雰囲気の温度調節、培養液の循環、空気および二酸化炭素の混合ガスの供給などを制御し得る任意の機器または機器類の組み合わせを用いることができる。

【 0 0 5 3 】

【実施例】

以下、本発明をより具体的に例示する。これらの実施例は、本発明を限定するものではない。

【 0 0 5 4 】

(実施例 1)

細胞の電気生理学的特性を測定するための、本発明の一体化複合電極を備えた細胞電位測定装置の概略ブロック図を図 1 に示す。そして比較のために、従来の一体化複合電極を備えた細胞電位測定装置の概略ブロック図を図 2 に示す。

【 0 0 5 5 】

本発明の一体化複合電極 (1 0) は、図 1 中の点線 4 で囲まれた略正方形の領域中にマトリックス状に配置された 6 4 個の微小電極 (3 a) (サイズ $50 \times 50 \mu\text{m}$ の微小電極の各々の中心部が、 8×8 の格子上の各交点に位置する) 、 4 個の参照電極 (5 a : 測定用参照電極、 5 b : 刺激用参照電極) (サイズ $200 \mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$ の参照電極の各々の中心部が、一辺が約 8.5 mm の正方形の各頂点に位置する。このとき第 1 の領域と第 2 の領域との距離は約 5 mm である) を備え、刺激信号付与装置 1 および細胞電位測定装置 2 に接続されている。刺激用参照電極 (5 b) および測定用参照電極 (5 a) は、それぞれ、約 0.04 mm^2 の表面積を有する。刺激用参照電極 (5 b) は、測定用参照電極 (5 a) と電気回路的に独立して配置されている。なお、図 1、 2、 5 および 6 に示される測定用参照電極間の点線および刺激用参照電極間の一点鎖線は、それぞれ電氣的短絡を示す。これは、通常、アンプ内の電気回路によって短絡されていることにより形成される電氣的短絡である。

【 0 0 5 6 】

まず最初に、図 1 に示す装置を用い、電極上に被測定物を置かずに、10 マイクロ A の定電流を双極性のパルス（パルス幅 100 マイクロ秒）を、図 1 に示す、マトリックスの第 2 行第 6 列目にある微小電極に刺激として与え、各微小電極におけるノイズレベルの測定とアーチファクトの影響を調べた。ノイズレベルの測定は、微小電極の各々に対応する 64 チャンネルで表示したコンピューター画面に各電極における誘発電位応答を表示させることにより行った。なお、微小電極の各々は、基板上のリード線（図示せず）、A/D 変換器を介してコンピューターに接続された。

【0057】

64 個の微小電極の各々の応答は、上記定電流双極性パルスの刺激前 5 ミリ秒から刺激後 20 ミリ秒までの間 64 チャンネルをモニターした。結果を図 3 に示す。

【0058】

対照として、図 2 に示す従来の方式の一体化複合電極を備えた装置を用い、図 2 に示すマトリックス第 2 行第 6 列目の微小電極を含む一対の微小電極間に、上記と同じ 10 マイクロ A の定電流を双極性のパルスを与えて 64 チャンネルをモニターした。結果を図 4 に示す。

【0059】

図 4 に示されるように、対照の装置では、刺激電極として使用されたマトリックス第 2 行第 6 列目の微小電極において、鋸状の波形で示されるように非常にノイズレベルが高かった。また、刺激微小電極周辺の微小電極においても、アーチファクトが大きく、定常電位へ復帰するために、5～20 ミリ秒の時間を要した。

【0060】

それに対し、本願の一体化複合電極を備えた装置では、図 3 に示されるように、マトリックス第 2 行第 6 列目の微小電極においてノイズはほとんど検出されず、また刺激電極周辺の微小電極においてもアーチファクトが非常に小さかった。

【0061】

（実施例 2）

本発明の一体化複合電極を備えた図1に示す装置を用い、そしてさらに図5に示す4つの刺激用参照電極を有する一体化複合電極を備えた細胞電位測定装置を作製し、実際にラットの海馬切片（脳）を用いて、微小電極の各々における誘発電位の測定を行った。

【0062】

図5に示す装置において、4個の刺激用参照電極は、一辺が約8.5mmのほぼ正方形の頂点に配置した。この装置のその他の構成は図1に示す装置と同じである。この装置を用いて、実際にラットの海馬切片（脳）を用いて、微小電極の各々における誘発電位の測定を行った。図5は、ラットの海馬切片7を装置に配置した状態を示す概略ブロック図である。

【0063】

海馬切片は、4週令のSD/slcラットをフローセンで麻酔した後、断頭し全脳を摘出して得た。摘出した脳を直ちに氷冷下リングル液で冷却し、海馬のみを含む脳断片を切り出した。次いで、切り出した脳断片を、組織切断化装置で、300ミクロンの厚さの切片とし、この切片を微小電極上に置き試験に供した。

【0064】

誘発電位の測定は、実施例1と同様に、10マイクロAの定電流を双極性のパルス（パルス幅100マイクロ秒）として用い、図1に示す装置では、マトリックス第2行第2列めの微小電極に、そして図5に示す装置では、マトリックス第2行第6列目の微小電極に与えて行った。測定結果のコンピュータ画面を図7に示す。図7は、図5に示す装置を用いた場合の測定結果である。図8は、対照として、図6に示す、従来型の一体化複合電極を備えた装置用い、図6のマトリックス第2行6列目の微小電極を含む一対の微小電極間に上記と同じ10マイクロAの定電流を双極性のパルスとして与えて同様の試験を行った結果を示す図である。

【0065】

図8に示されるように、従来型の一体化複合電極では、ほとんどのチャンネルにおいて、ベースラインの下にあって極小点をもつ波で示される神経細胞の電気信号は、その定常電位に復帰するのに20ミリ秒以上（図8のチャンネル画面に

において横軸 4 目盛り以上) を要したのに対し、図 7 に示される本発明の一体化複合電極を用いた場合には、すべてのチャンネルにおいて、細胞の電気信号は、20 ミリ秒以内に定常電位に復帰した。図 1 に示す装置を用いた場合も、すべてのチャンネルにおいて、細胞の電気信号は、20 ミリ秒以内に定常電位に復帰した。このように本発明の一体化複合電極を備えた装置では、ノイズレベルが低くアーチファクトの影響も小さい状態で良好に誘発電位の測定が可能であった。

【 0 0 6 6 】

【発明の効果】

外部雑音の影響を受けにくく、刺激によるアーチファクトを低減し、細胞の電気的信号を記録するのに適した一体化複合電極が提供される。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明の一体化複合電極を備えた細胞電位測定装置の概略ブロック図。

【図 2】

従来の一体化複合電極を備えた細胞電位測定装置の概略ブロック図。

【図 3】

本発明の一体化複合電極を備えた細胞電位測定装置の、定電流の双極性刺激に対するノイズレベルとアーチファクトを 64 チャンネルで表示したコンピュータ画面のプリントアウトを示す図。

【図 4】

従来の一体化複合電極を備えた細胞電位測定装置の、定電流の双極性刺激に対するノイズレベルとアーチファクトを 64 チャンネルで表示したコンピュータ画面のプリントアウトを示す図。

【図 5】

本発明の一体化複合電極を備えた細胞電位測定装置の改変例の概略ブロック図。

【図 6】

従来の一体化複合電極を備えた細胞電位測定装置の概略ブロック図。

【図 7】

本発明の一体化複合電極の改変例を備えた細胞電位測定装置の、定電流刺激に対するノイズレベルとアーチファクトを64チャンネルで表示したコンピュータ画面のプリントアウトを示す図。

【図8】

従来の一化複合電極を備えた細胞電位測定装置の、定電流刺激に対するノイズレベルとアーチファクトを64チャンネルで表示したコンピュータ画面のプリントアウトを示す図。

【図9】

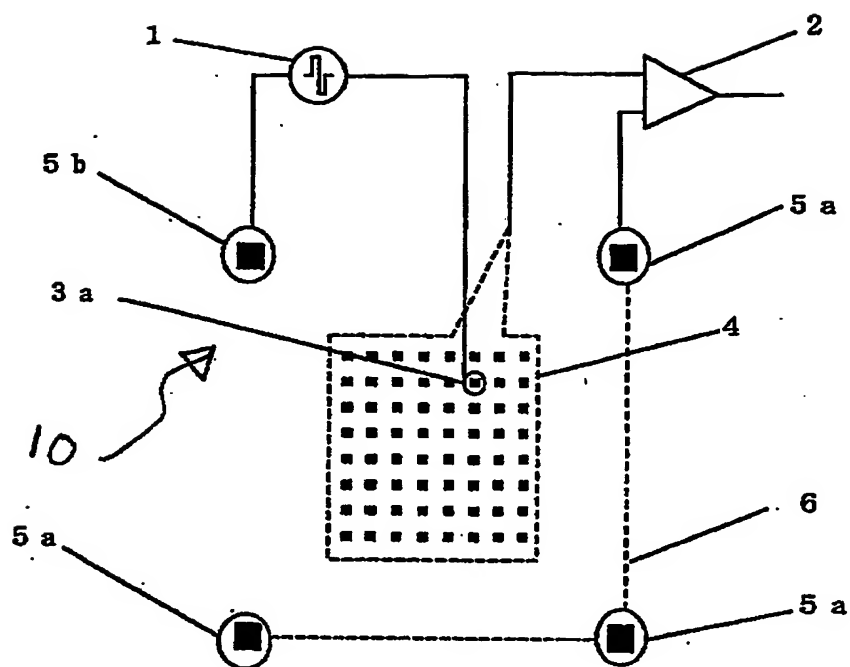
微小電極が配置された第1の領域と参照電極が配置される第2の領域との関係を示す概念図である。

【符号の説明】

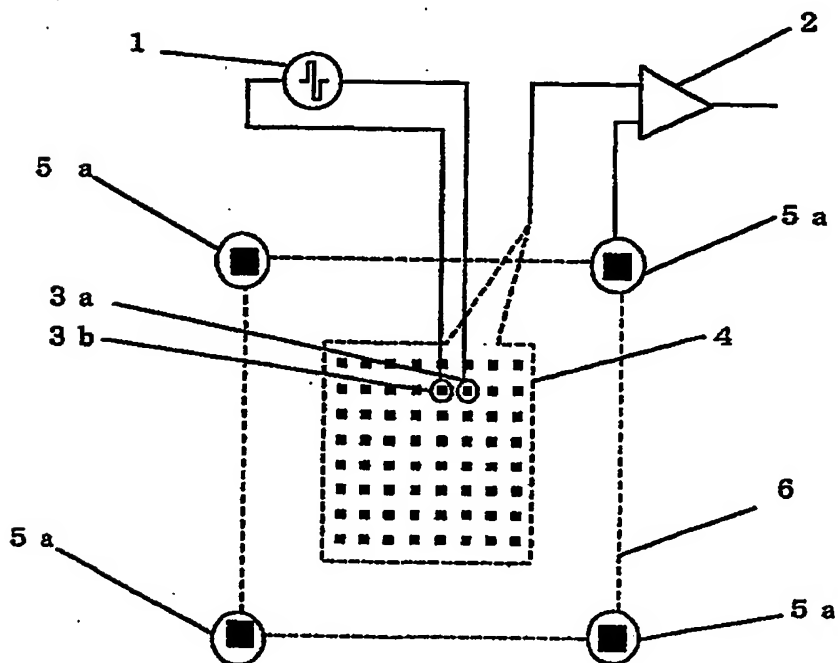
- 1 刺激信号付与装置
- 2 出力信号処理装置
- 3 a 刺激微小電極
- 3 b 刺激用基準微小電極
- 4 微小電極を配置した領域
- 5 a 測定用参照電極
- 5 b 刺激用参照電極
- 6 電氣的短絡を表す線
- 7 被測定細胞
- 10 一体化複合電極

【書類名】 図面

【図1】



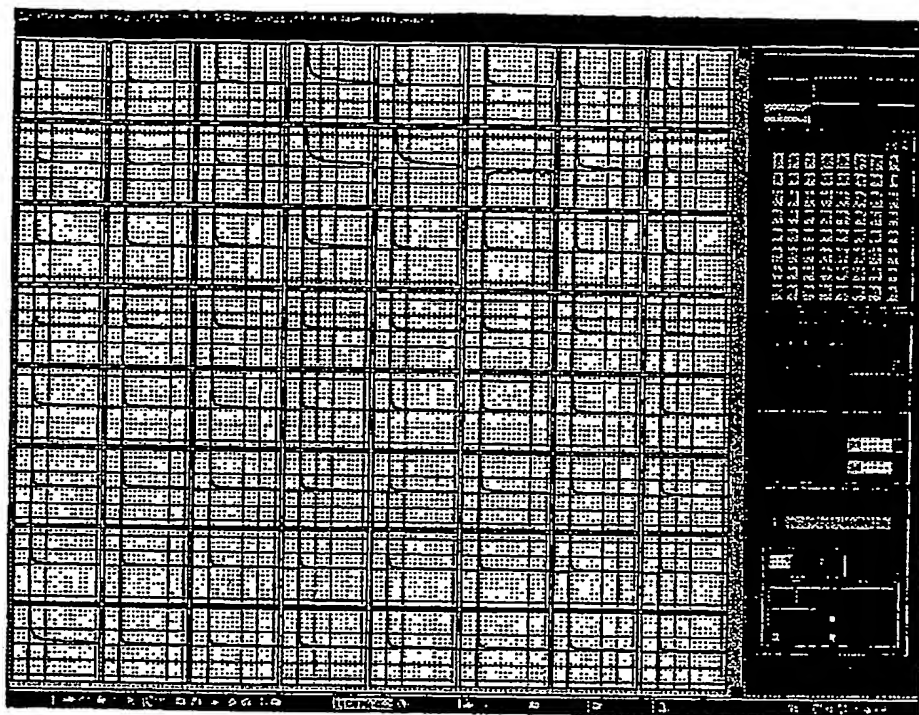
【図2】



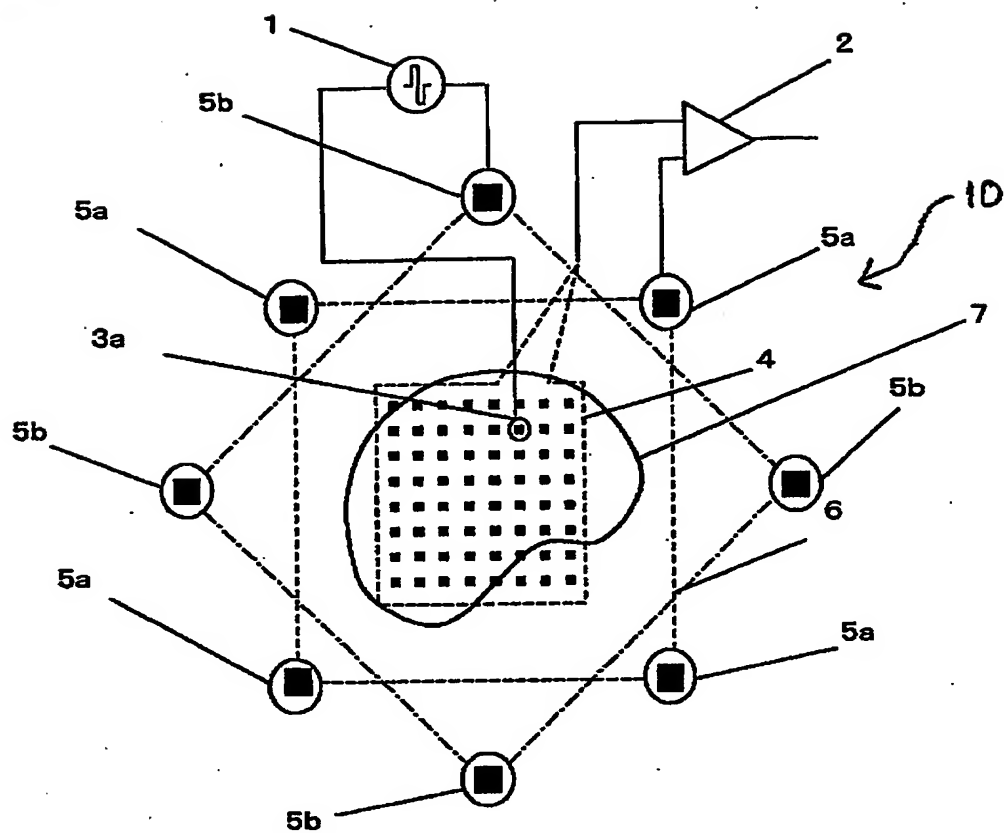
【図3】

The image shows a technical drawing of a circuit board layout. The main part of the board is a large grid of small rectangular components, possibly integrated circuits or resistors, arranged in a regular pattern. To the right of this grid is a vertical strip containing several larger, more complex components, which could be connectors, switches, or specialized ICs. The drawing is highly detailed, showing the individual components and their connections. The overall layout is rectangular, with the components densely packed in the central area and more spaced out towards the edges.

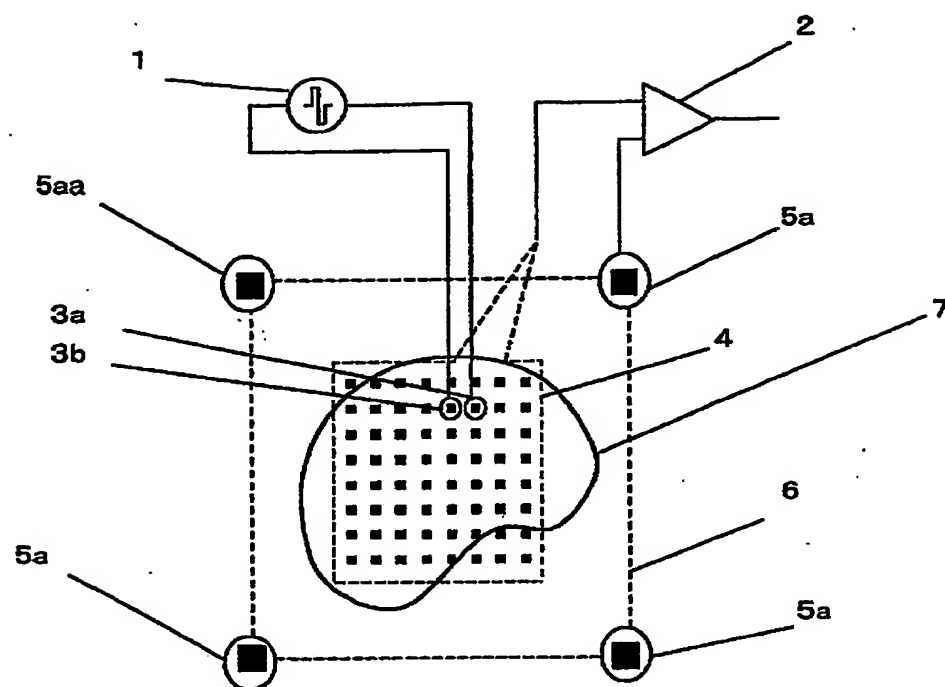
【図4】



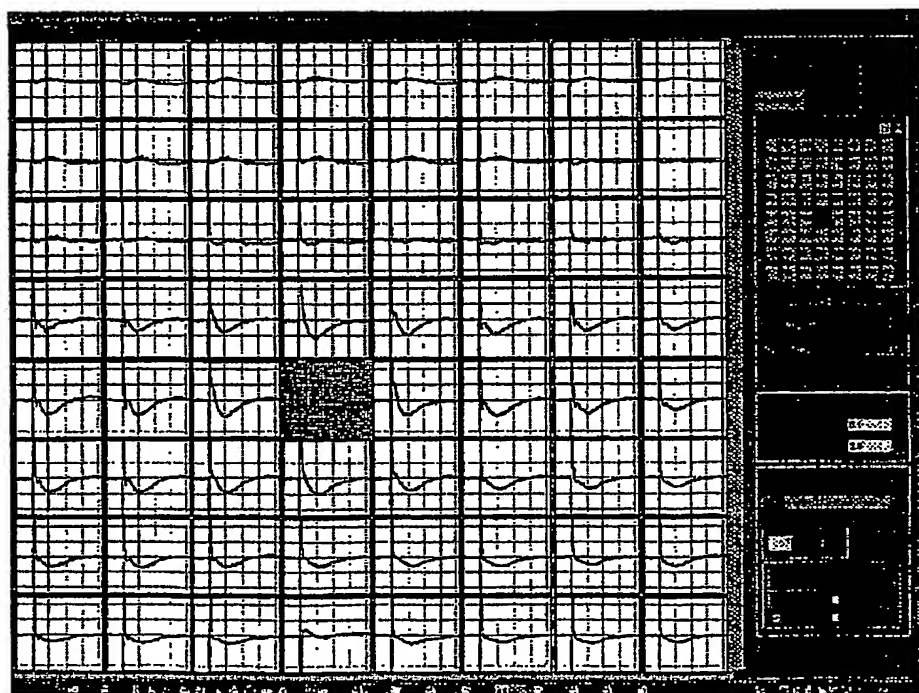
【図5】



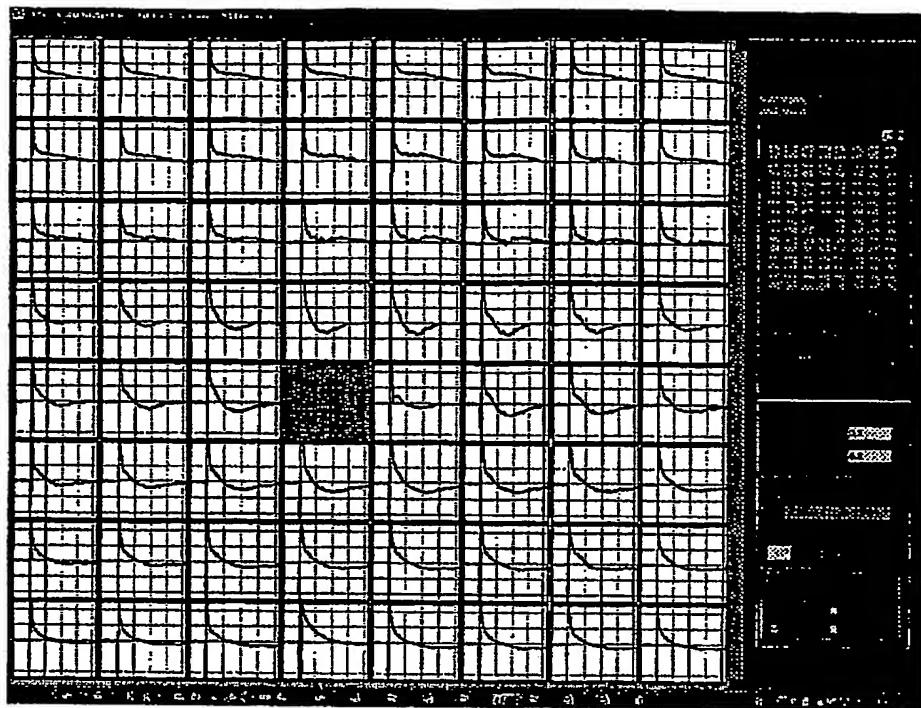
【図6】



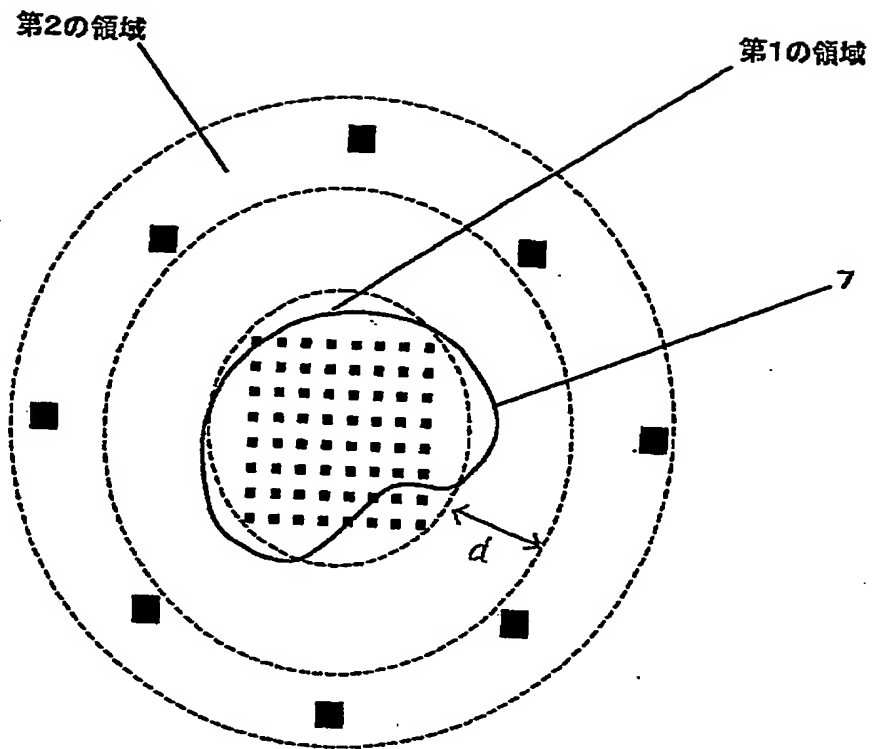
【図7】



【図8】



【図9】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 外部雑音の影響を受けにくく、刺激によるアーチファクトを低減し、細胞の電気的信号を記録するのに適した一体化複合電極を提供する。

【解決手段】 生物学的試料の電気生理学的特性を測定するための一体化複合電極であって、基板上の第1の領域に配置された複数の微小電極、および基板上の第2の領域に配置された参照電極を備え、該参照電極が、微小電極の1つに電気信号を付与するための1つ以上の刺激用参照電極を含む、一体化複合電極。

【選択図】 図5

特2000-213531

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000005821]

1. 変更年月日 1990年 8月28日
[変更理由] 新規登録
住 所 大阪府門真市大字門真1006番地
氏 名 松下電器産業株式会社